

**GREGOR HARTMANN  
JAPANESE-ENGLISH TRANSLATION  
137 OAK STREET  
RIDGEWOOD, NEW JERSEY 07450-2508  
Voice: 201-445-2263 Fax: 201-445-5025**

TRANSLATION from Japanese to English

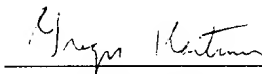
**CERTIFICATE OF ACCURACY**

I swear that I am a translator of the Japanese and English languages, a professional provider of translations, accredited by the American Translators Association for Japanese to English translation;

that I am thoroughly familiar with these languages and have carefully made and verified the attached translation from the original document in the Japanese language, to wit:

Laid-open Japanese Patent Application Hei 4-149126  
(Pharmaceutical Composition for Mucosal Administration)

and that the attached translation is a true and correct English version of the original to the best of my knowledge and belief.

  
\_\_\_\_\_  
Gregor Hartmann                      3-19-01  
Date

19. Japan Patent Office (JP)  
 12. Laid-open Patent Gazette (A)  
 11. Laid-open Patent Application No. Hei 4-149126  
 43. Date Published: May 22, 1992
- 

|     |                       |        |                    |
|-----|-----------------------|--------|--------------------|
| 51. | Int. Cl. <sup>5</sup> | ID No. | Office Control No. |
|     | A 61 K 9/08           | U      | 7624-4C            |
|     | 9/107                 | U      | 7624-4C            |
|     | 35/413                |        | 9165-4C            |
|     | 37/02                 |        | 8317-4C            |
|     | 37/26                 |        | 8317-4C            |
|     | 37/30                 |        | 8317-4C            |
|     | 47/46                 | E      | 7624-4C            |

Examination Not Requested Yet  
 Number of Claims: 2 (Total 5 pages)

---

54. Title of Invention: Pharmaceutical Composition for Mucosal Administration  
 21. Application Number: Hei 2-271447  
 22. Application Date: October 9, 1990  
 72. Inventor: Takeshi[?] Inamori, Mitsubishi Kasei Co., Ltd.  
 72. Inventor: Masatoshi[?] Chiba, Mitsubishi Kasei Co., Ltd.  
 72. Inventor: Miki Matsuura, Mitsubishi Kasei Co., Ltd.  
 71. Applicant: Mitsubishi Kasei Co., Ltd., 2-5-2 Marunouchi, Chiyoda-ku, Tokyo  
 74. Agent: Hajime Hasegawa, Patent Agent, and one other

## SPECIFICATION

1. TITLE OF INVENTION  
 Pharmaceutical Composition for Mucosal Administration

2. CLAIMS  
 (1) A pharmaceutical composition for mucosal administration, comprising a peptide pharmaceutical and a naturally derived bile extract powder.  
 (2) The composition recited in claim 1, wherein the peptide pharmaceutical is calcitonin or insulin.

3. DETAILED EXPLANATION OF THE INVENTION  
 Industrial Field of the Invention

The present invention pertains to a pharmaceutical composition for mucosal administration, comprising a peptide pharmaceutical and a naturally derived bile extract powder.

More specifically, it pertains to a pharmaceutical composition for mucosal administration that improves absorption and increases bioavailability of peptide pharmaceuticals, which have low bioavailability because they are hard to absorb.

#### Prior Art and Problems the Invention Is to Solve

When a drug is administered to the body, the serum concentration of the drug is determined by the speed and amount entering the body (bioavailability) and the speed and amount removed by the body (clearance). Therefore increasing the bioavailability of a drug is always desirable because the serum concentration rises so the drug's efficacy increases or the amount administered can be reduced.

Nevertheless, peptide pharmaceuticals have high molecular weights so they are not absorbed by the mucosa of the digestive tract, nose, eye, mouth, vagina, etc., and if they are absorbed are broken down by protein-cleaving enzymes (proteases) in the mucosa, so they are known to be very difficult to absorb. As a result, sufficiently high bioavailability is difficult to obtain, so conventional countermeasures in this case are joint use of a chymotrypsin inhibitor for insulin or preventing breakdown of the peptide in the digestive tract by coating it with an azoaromatic copolymer coating, for example. However, there are safety problems when using a chemical that is not approved as a pharmaceutical additive, and manufacturing takes more time, so in practice these approaches cannot be used. Also, cationic, anionic, or both ionic surfactants, nonionic surfactants, bile acid (salts), etc. are known as peptide pharmaceutical absorption enhancers, but there are manufacturing problems because these must be added in large amounts and there are safety problems such as irritation of the mucosa, so at present they are not practical. Therefore the development of a peptide agent with excellent absorption and high bioavailability and few side effects is needed.

#### Means for Solving the Problems

The inventors performed much diligent research to solve these problems, and as a result they discovered that, compared to the bile salts whose utility has been often reported, naturally derived bile extract powder in very small amounts has a remarkable effect in enhancing absorption of difficult-to-absorb peptide pharmaceuticals when administered via the mucosa, and moreover have little irritation of mucosa, and so they completed the present invention.

That is, the gist of the present invention is a pharmaceutical composition for mucosal administration, characterized as containing a peptide pharmaceutical and a naturally derived bile extract powder.

Below, the present invention shall be explained in detail.

The peptide pharmaceutical used in the present invention specifically includes insulin, calcitonin, etc. However, basically any peptide pharmaceutical that cannot be absorbed or is very hard to absorb when administered via a mucosal membrane may be used; they are not restricted to the specific examples listed above.

The bile extract powder used in the inventive composition is a component extracted from natural bile; specific examples include bile powder, bovine bile extract powder, [illegible] bovine bile, bovine bile, other animal bile, bile ducts, animal bile extract, liver extract powder, bile extract, [illegible] bile powder, etc. Bile extract powder may be used alone or combined with a surfactant.

The surfactant used may be a fatty acid, fatty acid salt, ionic or anionic surfactant, a phospholipid such as lecithin, hydrated lecithin, etc., cholesterol, etc. A fatty acid or fatty acid salt is preferred.

The amount of bile extract powder contained varies according to the type of the main pharmaceutical, but usually is about 0.1~20 mg based on standard body weight; 0.1~10 mg is more preferred. An additional surfactant can be used in an amount suitable for the bile extract powder.

The site for administering the inventive composition may be any site in the body that is a site having a mucous membrane. Administration whose object is absorption of a pharmaceutical via a mucous membrane is defined as mucosal administration. Specific examples include the nose, mouth, rectum, eyes, vagina, digestive tract, etc.

Furthermore, small quantities of stabilizers, pH regulators, cross-linking agents, colorants, fragrance, preservatives, etc. may be added to the inventive composition by well-known means, as is the case with ordinary pharmaceuticals.

The form of the inventive pharmaceutical composition may be solid or liquid; examples thereof include powders, mixed micelle solutions, emulsion solutions, etc. A mixed micelle solution or emulsion solution may be administered in that state to a mucous membrane, or the moisture may be removed by freeze-drying, spray drying, etc. to make it a solid.

The formulation may be anything suitable for administration via a mucous membrane. Examples include pills, powders, liquids, suppositories, ointments, troches, etc. These formulations can administer peptide pharmaceuticals that are conventionally used as injected agents via a mucous membrane, so the pain and vascular damage that accompanies injections is reduced, and the operation is simplified.

The amount of the inventive composition administered varies according to the type of the main pharmaceutical, so it cannot be broadly summarized, but usually the inventive composition is adjusted to provide about 50~1000 units of the main drug, and is mucosally administered once to several times a day.

#### Embodiments

Next, the present invention shall be explained in additional detail using embodiments, but these only give the general essence of the present, which is not restricted to the following embodiments.

#### Embodiment 1

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U and bovine albumin (Sigma Co.) 5 mg were dissolved in physiological saline solution 5 ml, and bovine bile extract powder (Shinnippon Pharmaceuticals Co.) 20 mg was additionally dissolved therein. This solution was treated for one minute with an ultrasonic device (Tomi Precision IUD-201, 20 KHz, 200W), resulting in a transparent homogeneous solution (Preparation 1).

#### Comparison Example 1

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U and bovine albumin 5 mg were added to physiological saline solution to make a total of 5 ml, and this solution was repeatedly mixed to make a homogeneous solution (Comparison Preparation 1).

#### Embodiment 2

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U, bovine bile extract powder 15 mg, sodium oleate 20 mg, and albumin 5 mg were used to make a transparent homogeneous mixed micelle solution by the same method as in the aforesaid Embodiment 1 (Preparation 2).

#### Comparison Example 2

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U, sodium glycocholate 20 mg, and bovine albumin 5 mg were added to physiological saline solution to make a total of 5 ml, and this solution was treated ultrasonically at 20 KHz for 3 minutes to yield a homogeneous solution (Comparison Preparation 2).

#### Embodiment 3

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U, bovine bile extract powder 20 mg, sodium caprate (Tokyo Kasei Co.) 100 mg, and bovine albumin 5 mg were added to physiological saline solution to make a total of 5 ml. This solution was treated ultrasonically at 20 KHz for 3 minutes to yield a homogeneous solution (Preparation 3).

#### Comparison Example 3

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U and bovine albumin 5 mg were added to physiological saline solution to make a total of 5 ml, and this solution was repeatedly mixed to make a homogeneous transparent solution (Comparison Preparation 3-1). Also, [Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U, sodium caprate 100 mg, and bovine albumin 5 mg were added to physiological saline solution to make a total of 5 ml. This solution was treated ultrasonically at 20 KHz for 3 minutes to yield a homogeneous solution (Comparison Preparation 3-2).

#### Embodiment 4

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 180U and bovine bile extract powder 10 mg were added to distilled water to make a total of 2 ml, and this solution was repeatedly mixed to yield a homogeneous transparent solution (Preparation 4).

#### Comparison Example 4

Based on the method of the aforesaid Embodiment 4, Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 180U was used to make a transparent homogeneous solution (Comparison Preparation 4).

#### Embodiment 5

[Asu<sup>1,7</sup>] chicken calcitonin 500U, bovine bile extract powder 20 mg, and bovine albumin 5 mg were dissolved in distilled water 5 ml. Mannitol (Kao Co.) 100 mg was additionally dissolved in this solution, and a homogeneous solution was made. This solution was rapidly frozen in a dry ice/methanol mixed solution, and the moisture was gradually removed using a freeze dryer (Yamato Co., DC-35) at reduced pressure for 12 hours, and it was dried, resulting in a fibrous powder composition banded with pale yellow (Preparation 5).

## Embodiment 6

Preparation 5 obtained in the aforesaid Embodiment 5 was put in a miniature capsule (Nippon Erason Co.), and it was coated by the dipping method using HP-50 (Shinetsu Kagaku Co.), which is a type of coating agent (Preparation 6).

Absorption of the inventive compositions was shown by the following test cases.

### Test Case 1

A group consisted of five male Wistar rats who fasted overnight (average body weight 120g). Each group was rectally administered either the aforesaid Preparation 1 or 2 (0.5 ml/kg body weight) using a syringe equipped with a probe. In order to prevent discharge of the pharmaceutical immediately after administration, the rectum was blocked using the surgical adhesive Aron Alpha.®

Blood was sampled from the tail vein immediately before the drug was administered and immediately after at 0.5, 1, 1.5, 2, 3, and 4 minutes (a total of 7 points), 100 µl each time, using a hematocrit tube containing sodium heparin. Then it was centrifuged for 5 minutes at 12000 rpm, and the serum was separated, and the serum calcium concentration was determined by the CPC method (calcium C test, Wako Pharmaceuticals Co.), and the amount of calcitonin absorbed was evaluated by the effect in decreasing serum calcium concentration. That is, the lower the calcium concentration the greater the calcitonin absorption. Furthermore, the same test was performed on the aforesaid Comparison Preparations 1 and 2 as controls.

The results were as shown in FIG. 1. Compared to Comparison Preparation 1, which did not contain bovine bile extract powder, a remarkable decrease in serum calcium concentration was observed with Preparation 1, which did contain bovine bile extract powder. Also, a remarkable decrease in serum calcium concentration was observed with Preparation 1 even compared to Comparison Preparation 2, which included sodium glycocholate, a type of bile salt, as an absorption enhancer. Also, a remarkable decrease in serum calcium concentration over a long period of time was observed with Preparation 2, which contained bovine bile extract powder and sodium oleate. Therefore it is clear that the addition of small amounts of bovine bile extract powder greatly improves the absorption of calcitonin via the rectal mucosa.

### Test Case 2

A group consisted of five male Wistar rats who fasted overnight (average body weight 120g). They were anaesthetized with ether, and then a 2-cm incision was made in the upper abdomen, and the duodenum was extracted, and the aforesaid Preparation 3 was rapidly administered to the duodenum using a syringe with a 28G needle in the amount of 0.5 ml/kg body weight. After administration [the abdomen] was closed with a clip, and decrease in body temperature and expenditure of physical strength were prevented. Furthermore, as a control the same test was performed with the aforesaid Comparison Preparation 3. Calcitonin absorption by the duodenum mucosal membrane was evaluated by measuring serum calcium concentration based on the method of the aforesaid Test Case 1.

The results are as shown in FIG. 2. The inventive Preparation 3 produced a remarkable decrease in serum calcium concentration compared to Comparison Preparation 3-1, which did not contain an absorption enhancer, and even compared to

Comparison Preparation 3-2, which contained only the known sodium caprate as an absorption enhancer. Therefore the inventive composition containing bovine bile extract powder clearly produces a remarkable increase in calcitonin absorption by the duodenum mucosal membrane.

### Test Case 3

A group consisted of three male New Zealand White rabbits who fasted overnight (average body weight 3 kg). The aforesaid Preparation 4 was administered as nose drops to one nostril in the amount of 0.1 ml/rabbit. Furthermore, as a control the same test was performed with the aforesaid Comparison Preparation 4. Calcitonin absorption by the nasal membrane was evaluated by measuring serum calcium concentration based on the method of the aforesaid Test Case 1. The results were as shown in FIG. 3. Preparation 4, which contained bovine bile extract powder, reduced serum calcium concentration more than did Comparison Preparation 4, which did not contain bovine bile extract powder. Therefore the inventive composition clearly increases the amount of calcitonin absorbed by the nasal membrane.

### Effect of the Invention

The present invention has excellent absorption compared to conventional peptide pharmaceuticals, and produces a composition that can be administered via the mucosa with little irritation to the mucosa, so it provides a peptide pharmaceutical that is useful and highly safe.

### 4. BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1, FIG. 2, and FIG. 3 are graphs showing changes in serum calcium concentration over time. In the graphs the vertical axis is serum calcium concentration (mg/dl) and the horizontal axis is time (hours).

In FIG. 1 a circle represents Comparison Preparation 1, an open triangle is Comparison Preparation 2, a black triangle is Preparation 1, and a square is Preparation 2.

In FIG. 2 a circle represents Comparison Preparation 3-1, a triangle represents Comparison Preparation 3-2, and a black circle represents Preparation 3.

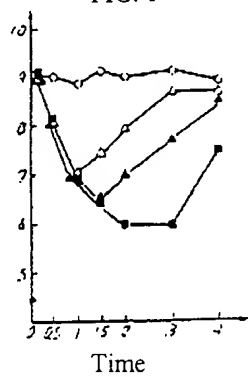
In FIG. 3 an open circle represents Comparison Preparation 4 and a black circle is Preparation 4.

Applicant: Mitsubishi Kasei Co., Ltd.

Agent: Hajime Hasegawa, Patent Agent, and one other

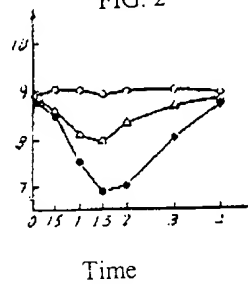
Serum calcium concentration (mg/dl)

FIG. 1



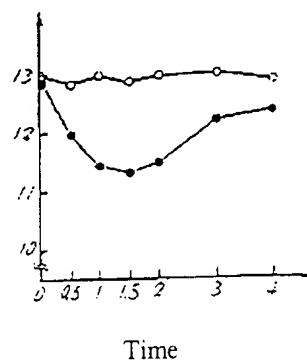
Serum calcium concentration (mg/dl)

FIG. 2



Serum calcium concentration (mg/dl)

FIG. 3





## ⑫ 公開特許公報(A) 平4-149126

⑤Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

④公開 平成4年(1992)5月22日

A 61 K 9/08  
9/107  
35/413  
37/02  
37/26  
37/30  
47/46

U 7624-4C  
U 7624-4C  
9165-4C  
8317-4C  
8317-4C  
8317-4C  
E 7624-4C

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全5頁)

⑥発明の名称 経粘膜投与用医薬組成物

②特 願 平2-271447

②出 願 平2(1990)10月9日

⑦発明者 稲 森 武 茨城県鹿島郡波崎町砂山14番地 三菱化成株式会社鹿島工場内

⑦発明者 千葉 雅 俊 茨城県鹿島郡波崎町砂山14番地 三菱化成株式会社鹿島工場内

⑦発明者 松 浦 幹 茨城県鹿島郡波崎町砂山14番地 三菱化成株式会社鹿島工場内

⑦出願人 三菱化成株式会社 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号

⑦代理人 弁理士 長谷川 一 外1名

## 明 細 書

## 1 発明の名称

経粘膜投与用医薬組成物

## 2 特許請求の範囲

(1) ペプチド系医薬及び天然由来の胆汁エキス末を含有することを特徴とする経粘膜投与用医薬組成物

(2) ペプチド系医薬がカルシトニン又はインシュリンである請求項1記載の組成物。

## 3 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明はペプチド系医薬及び天然由来の胆汁エキス末を含有してなる経粘膜投与用医薬組成物に関する。

更に詳しくは難吸収性のため生物学的利用能が低いペプチド系医薬についての吸収性を改善し、生物学的利用能を向上させた経粘膜投与用医薬組成物に関する。

〔従来の技術及び発明が解決しようとする問題点〕

薬物を生体に投与した場合の薬物の血中濃度は、

薬物が生体内にはいる速度及び量(生物学的利用能)並びに薬物が生体によって除去される速度及び量(クリアランス)によって定まる。よって薬物の生物学的利用能を高めることは、血中濃度が上昇するため薬効の向上あるいは投与量の低減につながることから常に望まれている。

しかしながら、ペプチド系医薬は、分子量が大きいために消化管、鼻、眼、口腔、膣等の粘膜から吸収されないか、されたとしても粘膜中のタンパク分解酵素(プロテアーゼ)により、分解を受けるために極めて吸収され難いことが知られている。その結果、十分に高い生物学的利用能が得られ難く、従来よりこのような場合には、例えばインシュリンに対するキモトリプシン阻害剤の併用、アゾアロマティックコポリマー被覆によるペプチドの消化管内分解抑制等の改善策が知られている。しかし、医薬品添加物として認められていない薬剤を使用することによる安全面の問題や、製剤化において手間がかかる等の実用に供し得ない欠点があった。またペプチド系医薬の吸収促進剤とし

てカチオン性、アニオン性、両性等のイオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤または胆汁酸（塩）等が知られているがこれらもまた多量の配合量による製剤化上の問題や粘膜に対して刺激性を有する等の安全性の問題により、実用化されないのが現状である。従って、吸収性が良好で生物学的利用能が高く、かつ副作用の少ないペプチド製剤の開発が望まれていた。

〔問題点を解決するための手段〕

本発明者らは、かかる問題点を解決すべく鋭意検討した結果、従来有用性が多数報告されている胆汁酸塩と比較して、天然由来の胆汁エキス末が極めて少量で、難吸収性のペプチド系医薬の経粘膜投与に対して顕著な吸収促進効果を有し、しかも粘膜に対して刺激作用が少ないことを見出し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明の要旨は、ペプチド系医薬及び天然由来の胆汁エキス末を含有することを特徴とする経粘膜投与用医薬組成物に存する。

以下、本発明につき、詳細に説明する。

好ましくは0.1～1.0mg使用するのがよい。その他の界面活性剤は胆汁エキス末に対して適量使用できる。

本発明の組成物の投与部位は、基本的には、生体内の粘膜を有する部位であれば何れの部位でもよく、粘膜経由で薬物を吸収させることを目的とする投与を、経粘膜投与と定義する。具体的には例えば、鼻、口腔、直腸、眼、膺、消化管粘膜等が挙げられる。

なお、本発明の組成物は自体公知の手段に従って通常の医薬と同様、少量の安定化剤、pH調製剤、矯味剤、着色剤、香料、防腐剤等を添加できる。

本発明の医薬品組成物の形状は固形状であっても液状であってもよく、このようなものとしては、例えば粉状、混合ミセル溶液あるいはエマルジョン溶液等が挙げられる。混合ミセル溶液あるいはエマルジョン溶液は、そのまま経粘膜投与してもよいがこれをさらに凍結乾燥、噴霧乾燥等により水分を除去して固形状としてもよい。

剤型としては経粘膜投与に適するものであれば

本発明で使用されるペプチド系医薬は、具体的には例えばインシュリン、カルシトニン等である。ただし、基本的には、経粘膜投与した場合に、吸収されないか、極めて吸収され難いペプチド系医薬であれば何れでもよく、上記具体例に限定されるものではない。

本発明の組成物に使用される胆汁エキス末は、天然胆汁中より抽出された成分であり、具体的には例えば、胆汁末、牛胆汁エキス末、稠厚牛胆、牛胆、動物胆、ユウタン、動物胆汁エキス、肝臓エキス末、胆汁エキス、鯉胆末等が挙げられる。胆汁エキス末は単独で用いられてもよいし、界面活性剤との混合物として使用されてもよい。

使用し得る界面活性剤としては脂肪酸、脂肪酸塩類、イオン性もしくは非イオン性界面活性剤、レシチン、水添レシチン等のリン脂質またはコレステロール類等が挙げられ、脂肪酸または脂肪酸塩類が好ましい。

胆汁エキス末の配合量は、主薬の種類により異なるが、通常、単位体重当たり0.1～2.0mg、より

いずれのものでもよく、例えば錠剤、散剤、液剤、坐剤、軟膏剤、トローチ等が挙げられる。これらの製剤は従来注射剤として使用されているペプチド系医薬を経粘膜投与できるため、注射に伴う疼痛や血管障害等を軽減し、操作の簡便化にも役立つ。

本発明の組成物の投与量は主薬の種類により異なるので一概にはいえないが、通常成人1回当たり、主薬が50～1000unitとなるように本発明の組成物を調製し、1日1～数回経粘膜投与することができる。

（実施例）

次に、本発明を実施例によりさらに詳細に説明するが、本発明はその要旨を越えない限り、以下の実施例に限定されるものではない。

#### 実施例1

生理食塩水5mlに、〔Asu<sup>17</sup>〕-ニフトリカルシトニン500U及び牛アルブミン（シグマ社製）5mgを溶解させ、更に牛胆汁エキス末（新日本薬業社製）20mgを溶解させた。同溶液

を、超音波装置（トミー精工UD-201型、20 KHz、200 W）にて、1分間の処理を行い透明な均一溶液を得た（製剤1）。

#### 対照例1

〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン500 U及び牛アルブミン5 mgを生理食塩水に加え全量を5 mlとし、同溶液を振り混ぜて均一溶液を得た（対照剤1）。

#### 実施例2

〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン500 U、牛胆汁エキス末15 mg、リノール酸ナトリウム20 mg及びアルブミン5 mgを使用して、前記実施例1の調製方法に準じて透明な均一混合ミセル溶液を得た（製剤2）。

#### 対照例2

〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン500 U、グリココール酸ナトリウム20 mg及び牛アルブミン5 mgを生理食塩水に加え全量を5 mlとし、同溶液を20 KHzで3分間の超音波処理を行い均一溶液を得た（対照剤2）。

を2 mlとし、同溶液を振り混ぜて透明な均一溶液を得た（製剤4）。

#### 対照例4

前記実施例4の方法に準じて、〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン180 Uを使用し透明な均一溶液を得た（対照剤4）。

#### 実施例5

蒸留水5 mlに、〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン500 U、牛胆汁エキス末20 mg及び牛アルブミン5 mgを溶解させた。更に同溶液にマンニット（花王社製）100 mgを溶解させ、均一溶液とした。同溶液をドライアイス／メタノール混合溶液中で速やかに凍結し、凍結乾燥機（ヤマト社製、DC-35型）を用いて、減圧下で12時間にわたって徐々に水分を除去・乾燥し、淡黄色を帯びた綿状粉末組成物を得た（製剤5）。

#### 実施例6

前記実施例5で得た製剤5をミニチュアカプセル（日本エランコ社製）に充填し、さらに、腸溶性基剤の1種であるHP-50（信越化学社製）

#### 実施例3

〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン500 U、牛胆汁エキス末20 mg、カプリン酸ナトリウム（東京化成社製）100 mg及び牛アルブミン5 mgを生理食塩水に加え全量を5 mlとした。同溶液を、20 KHzで3分間の超音波処理を行い均一な混合ミセル溶液を得た（製剤3）。

#### 対照例3

〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン500 U及び牛アルブミン5 mgを生理食塩水に加え全量を5 mlとし、同溶液を振り混ぜて均一透明溶液を得た（対照剤3-1）。また、〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン500 U、カプリン酸ナトリウム100 mg及び牛アルブミン5 mgを生理食塩水に加え全量を5 mlとし、同溶液を20 KHzで3分間の超音波処理を行い均一溶液を得た（対照剤3-2）。

#### 実施例4

〔Asu<sup>117</sup>〕ーニワトリカルシトニン180 U及び牛胆汁エキス末10 mgを蒸留水に加え全量

を用いてディッピング法でコーティングを施した（製剤6）。

本発明の組成物の吸収性を以下の試験例により示す。

#### 試験例1

一夜絶食させたウィスター系雄性ラット（平均体重120 g）5匹を一群として、各群にそれぞれ前記製剤1又は2（0.5 ml/kg体重）をゾンデ付注射筒を用いて直腸投与し、投与直後に薬剤の漏出を防ぐため、外科用接着剤アロンアルファ<sup>®</sup>を用いて肛門部を塞いだ。

薬剤を投与する直前及び投与後0.5、1、1.5、2、3、及び4時間の計7点において、尾静脈よりヘパリンナトリウムを含んだヘマトクリット管を用いて経時的に1回につき100  $\mu$ lを採血した。さらに12000 rpmで5分間遠心分離を行い、血漿を分取し、血漿中のカルシウム濃度をOCPC法（カルシウムCテスト、和光純薬社製）により定量し、カルシトニンの吸収量を血漿中カルシウム濃度の低下効果で評価した。即ち、血漿

中カルシウム濃度が低い程、カルシトニンの吸収量が多いことがわかる。尚、コントロールとして、前記対照剤1及び2についても同様の試験を行った。

結果は第1図に示す通りであり、牛胆汁エキス末を含まない対照剤1と比較して牛胆汁エキス末を含む製剤1では著しい血中カルシウム濃度の低下が見られた。又、吸収促進剤として胆汁酸塩の一種であるグリココール酸ナトリウムを配合した対照剤2と比較しても製剤1は著しい血中カルシウム低下効果が見られる。更に牛胆汁エキス末とリノール酸ナトリウムを配合した製剤2においては長時間にわたり、顕著な血中カルシウム濃度の低下が見られた。従って少量の牛胆汁エキス末を添加することにより、カルシトニンの直腸粘膜での吸収性が大幅に改善されることが明らかである。

#### 試験例2

一夜絶食させたウィスター系雄性ラット（平均体重120g）5匹を一群としてエーテル麻酔を施し、上腹部を約2cm開腹し、十二指腸を取り出

し、前記製剤3を0.5 ml/kg体重で28G針付注射筒を用いて速やかに十二指腸投与を行った。投与後は、クリップで閉腹し、体温の低下、体力の消耗を防止した。尚、コントロールとして前記対照剤3についても同様の試験を行った。カルシトニンの十二指腸粘膜における吸収性の評価については前記試験例1の方法に準じて血中カルシウム濃度を測定することにより行った。

結果は第2図に示す通りであり、本発明の製剤3は、吸収促進剤が配合されていない対照剤3-1に対してはもとより吸収促進剤として公知のカブリン酸ナトリウムのみを配合した対照剤3-2と比較しても血中カルシウム濃度を著しく低下させていることがわかる。従って牛胆汁エキス末を含有する本発明の組成物は十二指腸粘膜において顕著なカルシトニンの吸収亢進をもたらすことが明らかである。

#### 試験例3

一夜絶食させたニュージーランドホワイト雄性ウサギ（平均体重3kg）3羽を1群として、前記

製剤4を0.1 ml/羽で片側の鼻腔に点鼻投与を行った。尚、コントロールとして前記対照剤4についても同様の試験を行った。カルシトニンの鼻粘膜における吸収性の評価は前記試験例1の方法に準じて血中カルシウム濃度を測定することにより行った。結果は第3図に示す通りで、牛胆汁エキス末を含む製剤4は、牛胆汁エキス末を含まない対照剤4に対して血中カルシウム濃度を低下させており、従って本発明の組成物は鼻粘膜でのカルシトニン吸収量を増加させることが明らかである。

#### 〔発明の効果〕

本発明によれば、従来のペプチド系医薬に比べ、吸収性が良好でかつ、粘膜刺激性の少ない経粘膜投与用組成物が得られるため、有用で安全性の高いペプチド系医薬が提供される。

#### 4 図面の簡単な説明

第1図、第2図及び第3図は、血中カルシウム濃度の経時的变化を示した図である。各図中の縦軸は血中カルシウム濃度（mg/dl）を表わし、横

軸は時間（hour）を表わす。

第1図中の○プロットは対照剤1の場合を、△プロットは対照剤2の場合を、▲プロットは製剤1の場合を、■プロットは製剤2の場合をそれぞれ示す。

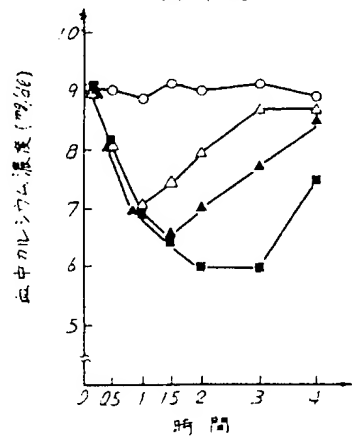
第2図中の○プロットは対照剤3-1の場合を、△プロットは対照剤3-2の場合を、●プロットは製剤3の場合をそれぞれ示す。

第3図中の○プロットは対照剤4の場合を、●プロットは製剤4の場合をそれぞれ示す。

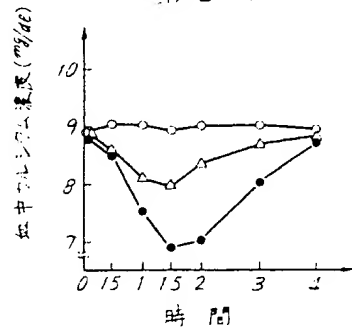
出願人 三菱化成株式会社  
代理人 弁理士 長谷川 一

（ほか1名）

第 1 圖



第 2 圖



第 3 圖

